文章编号:1000-5404(2005)15-1599-02

论著

新辅助化疗对宫颈鳞癌细胞增殖与凋亡的影响

王 莉,刘风花,刘若男 (河南省肿瘤医院妇科肿瘤科,郑州 450008)

提 要:目的 观察新辅助化疗对宫颈鳞癌细胞增殖及凋亡的影响。**方法** 对24例宫颈鳞癌进行1个疗程的以顺铂为主联合羟基喜树碱、博来霉素方案的新辅助化疗,以流式细胞术检测化疗前后的宫颈鳞癌组织中增殖细胞核抗原(PCNA)的表达;TUNEL法检测肿瘤细胞的凋亡指数(AI)。**结果** 化疗临床有效率为58.3%;化疗后宫颈鳞癌组织中PCNA的表达由(0.386±0.078)降至(0.125±0.040),差异显著($t=22.859$, $P<0.001$),而AI由(0.052±0.027)升至(0.248±0.078),差异显著($t=16.06$, $P<0.001$);化疗后临床有效者AI升高程度高于无效者,差异显著($t=2.398$, $P=0.029$)。**结论** 对宫颈鳞癌进行顺铂联合羟基喜树碱、博来霉素的新辅助化疗能显著抑制肿瘤细胞增殖、增加凋亡,PCNA表达的下调及AI上调可能是新辅助化疗抗癌作用的重要机制之一。

关键词:宫颈癌;新辅助化疗;增殖细胞核抗原;凋亡指数
中图法分类号:R329.28;R730.53;R737.33 **文献标识码**:A

Cell proliferation and apoptosis in squamous carcinoma of cervix after neoadjuvant chemotherapy

WANG Li, LIU Feng-hua, LIU Ruo-nan (Department of Gynecologic Tumor, Henan Tumor Hospital, Zhengzhou 450008, China)

Abstract: Objective To determine the effect of neoadjuvant chemotherapy (NAC) for cervix cancer on cell proliferation and apoptosis. **Methods** A total of 24 patients with squamous carcinoma of the cervix (SCC) were treated with one cycle of cisplatin combined with hydroxycamptothecine, bleomycin regimen. The expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and apoptosis index (AI) were detected before and after NAC with flow cytometry and TUNEL. **Results** Clinical response was 58.3% (14/24). Before and after NAC, the expression of PCNA were (0.386±0.078) and (0.125±0.040) respectively and AI were (0.052±0.027) and (0.248±0.078). Significant difference of PCNA and AI could be observed before and after NAC ($t=22.859$, $t=16.06$, $P<0.01$). The mean AI after NAC was significantly higher in effective cases ($t=2.398$, $P=0.029$). **Conclusion** NAC with cisplatin, hydroxycamptothecine, bleomycin regimen could inhibit proliferation and increase apoptosis of tumor cell in cervical squamous carcinoma tissue. The change of PCNA expression and AI may be one of molecule mechanisms leading to anti-tumor function of NAC.

Key words: cervical cancer; neoadjuvant chemotherapy; proliferating cell nuclear antigen; apoptosis index

宫颈癌是最常见的妇科恶性肿瘤之一,位居女性恶性肿瘤的第二位,仅次于乳腺癌。由于手术和放射治疗的应用,早期宫颈癌有较高的生存率,Ⅰb、Ⅱa期患者5年生存率为75%~90%,但是晚期宫颈癌或复发癌预后极差。近年来,宫颈癌术前或放疗前的化学治疗(neoadjuvant chemotherapy, NAC)越来越受到国内外学者的重视。化疗前后肿瘤细胞的病理、细胞增殖动力学、细胞凋亡和分子生物学改变等研究也逐步深入。细胞增殖和细胞凋亡的高低直接与肿瘤的消长相关,为此我们观察了新辅助化疗对宫颈癌肿瘤细胞增殖和凋亡的影响,现报告如下。

作者简介:王 莉(1964-),女,河南省信阳市人,副主任医师,主要从事妇科肿瘤临床方面的研究,发表论文10余篇。电话:(0371)65587387

收稿日期:2005-01-17;**修回日期**:2005-06-18

1 材料与方法

1.1 临床资料

2003年7月至2004年3月入住我科的癌症患者,选择24例宫颈鳞癌患者进行研究。24例患者临床资料如下:均为初治病人,无严重合并症;年龄28~70岁(中位年龄53岁);经2名以上的妇科专家检查,并按国际妇产科联盟(FIGO)的分期标准[1]进行分期,其中Ⅰb-Ⅱa期12例,Ⅱb期8例,Ⅲa-Ⅲb期4例;局部病灶最大直径<4 cm或≥4 cm分别为15例、9例。

1.2 研究方法

1.2.1 新辅助化疗方法 24例患者均给予HDB方案的新辅助化疗1个周期:羟基喜树碱(HCPT) 0.2 mg·kg^{-1}·d^{-1}静脉滴注,1次/d,连续5 d;顺铂(DDP)0.4~0.6 mg·kg^{-1}·d^{-1}静脉滴注,1次/d,连续5 d;博来霉素(BLM)15 mg/d肌肉注射,隔天1次,共3次,化疗前、化疗后3~7 d分别行宫颈病灶取材做下列检测:

1.2.2 增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PC-

NA)表达率的测定　参照文献[2]的方法,取新鲜组织经匀浆处理、分级离心制备单细胞核悬液,乙醇固定,分别加入 PCNA 单抗(美国 Maxim Biotech 公司),37 ℃反应 30 min 后加入异硫氰酸荧光素标记的二抗(FITC-IgG)作用 30 min,过滤后上流式细胞仪检测(美国 BD 公司)。每次获取10 000个细胞统计结果。以标记上荧光的细胞为阳性细胞,计算阳性细胞占总计细胞的百分比为阳性细胞标记率。

1.2.3　凋亡指数(apoptosis index, AI)的检测　在常规制备的石蜡切片上采用 TUNEL 试剂盒(购自德国宝灵曼公司)检测细胞凋亡,阴性对照采用 dUTP 核酸混合液代替 TUNEL 反应液。显色系统采用碱性磷酸酶(AP)/BCIP,阳性信号定位于核内,呈蓝紫显色。显微镜下计数1 000个细胞,凋亡指数(AI) = 阳性细胞/1 000。

1.2.4　化疗效果的判断　化疗前测量宫颈肿块的最大直径及其最大垂直横径,以二者乘积表示肿块大小。化疗结束后 2 周内再次测量宫颈肿块。化疗效果以宫颈病灶大小的变化来判断,采用国际抗癌协会(UICC)疗效判定标准,完全缓解(complete remission, CR)和部分缓解(partial remission, PR)视为临床有效,无变化(no change, NC)和临床进展(progression disease, PD)视为临床无效。

1.3　统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 10.0 统计软件行 t 检验。

2　结果

24 例患者经新辅助化疗后完全缓解 1 例,部分缓解 13 例,无效 10 例,临床有效率为 58.3%(14/24)。24 例宫颈鳞癌化疗前后宫颈鳞癌组织中 PCNA、AI 的表达(表 1)。化疗后不同临床疗效宫颈鳞癌组织中 PCNA、AI 表达变化的比较(表 2)。

表 1　化疗前后宫颈鳞癌组织中 PCNA、AI 的表达变化 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 1　Comparison of PCNA, AI expression before and after chemotherapy ($\bar{x} \pm s$)

	Pre-chemotherapy	Post-chemotherapy	t	P
PCNA	0.386 ± 0.078	0.125 ± 0.040	22.859	<0.01
AI	0.052 ± 0.027	0.248 ± 0.078	16.06	<0.01

表 2　化疗后不同临床疗效宫颈鳞癌组织中 PCNA、AI 表达变化 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 2　Changes of PCNA, AI expression in different clinical response after chemotherapy ($\bar{x} \pm s$)

	CR + PR(14 cases)	NC + PD(10 cases)	t	P
PCNA	0.275 ± 0.057	0.246 ± 0.055	1.260	0.222
AI	0.219 ± 0.071	0.170 ± 0.023	2.398	0.029

3　讨论

子宫颈癌的主要治疗手段有手术和放疗。新辅助化疗可以提高根治性手术或放疗疗效,近几年受到妇科肿瘤界的关注。Kuzuya[3]报道以顺铂为基础的联合化疗方案治疗Ⅰb-Ⅱb 期宫颈癌后再进行根治手术,可提高患者的 5 年生存率。其近期效果更是在诸多临床研究中得到肯定[4,5]。本研究中所采用的化疗方案亦是以顺铂为基础的联合用药。经过 1 个周期的治疗,宫颈鳞癌局部肿块均有不同程度缩小,无进展病例,临床有效率达到 58.3%,与 Sultana 等[6]报道相近。

宫颈癌的发生、发展及与治疗相关的转归等与肿瘤细胞的增殖与凋亡状态密切相关。二者表现程度决定了肿瘤的消长。学者常选用增殖细胞核抗原(PCNA)、Ki-67、细胞增殖指数和凋亡指数等反映肿瘤细胞的增殖或凋亡状态。PCNA 为细胞增殖标志,用于衡量细胞的增殖状态,是评价细胞增殖状态的一个重要客观指标。凋亡指数 AI 是反映凋亡程度的一个参数,不同肿瘤组织的 AI 不同,反映了自身的细胞动力学特点。研究表明,AI 是宫颈癌预后的一个独立的预测性指标。

本研究检测了新辅助化疗前后宫颈癌组织中 PCNA 和 AI,意在探讨 NAC 对肿瘤细胞增殖凋亡状态的影响。研究表明 NAC 后宫颈癌组织中 PCNA 的表达明显减弱,肿瘤细胞凋亡指数 AI 显著升高,表明 NAC 后宫颈肿瘤细胞增殖活性出现明显下降,凋亡明显增加,二者作用综合效果势必缩小肿瘤细胞数量。我们比较了化疗后不同临床疗效 PCNA 的表达变化幅度无显著差异,提示 NAC 后宫颈肿瘤细胞增殖活性的降低并不是影响近期化疗效果的主要因素,但是 PCNA 表达的下降说明 NAC 可使宫颈肿瘤细胞恶性潜能得到抑制。本研究表明肿瘤细胞凋亡指数 AI 在 NAC 后比化疗前显著升高,且临床化疗后有效者 AI 表达要明显高于无效患者,提示 NAC 后宫颈肿瘤细胞凋亡的增加是影响化疗近期疗效的重要因素。

新辅助化疗对于各期宫颈癌良好的近期疗效已为多数学者所肯定,但其远期疗效尚有争论。本组病例的远期疗效尚在随访之中,但根据新辅助化疗后 PCNA 表达减弱、细胞凋亡指数增加这一结果有理由相信宫颈鳞癌 NAC 不仅可直接抑制肿瘤的生长,而且可能使患者的远期疗效得到一定程度改善。

参考文献:

[1] 曹泽毅. 中华妇产科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999. 1766-1768.

[2] 司徒镇强, 吴军正. 细胞培养[M]. 北京: 世界图书出版公司, 1996. 219-220.

[3] Kuzuya K. Chemoradiotherapy for uterine cancer: current status and perspectives[J]. Int J Clin Oncol, 2004, 9(6): 458-470.

[4] Di Vagno G, Cormio G, Pignata S, *et al*. Cisplatin and vinorelbine as neoadjuvant chemotherapy in locally advanced cervical cancer: a phase II study[J]. Int J Gynecol Cancer, 2003, 13(3): 308-312.

[5] D'Agostino G, Distefano M, Greggi S, *et al*. Neoadjuvant treatment of locally advanced carcinoma of the uterine cervix with epirubicin, paclitaxel and cisplatin[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2002, 49(3): 256-260.

[6] Sultana H, Kigawa J, Kanamori Y, *et al*. Chemosensitivity and p53-Bax pathway-mediated apoptosis in patients with uterine cervical cancer [J]. Ann Oncol, 2003, 14(2): 214-219.

(编辑　张大春)